پراکنش گونه‌های سینورزیوبیویک از Sinorhizobium meliloti و S. medicae با یونجه در مناطق غربی ایران

مجد طالبی بدف، ی. مسعود بهار، ی. قدیر الله سعیدی و ی. سید ابوالقاسم محمودی
(تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۰۷/۰۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۰۹/۲۳)

چکیده

به منظور تعیین پراکنش جغرافیایی سینورزیوبیویک از Sinorhizobium meliloti و S. medicae با یونجه در نواحی غرب و شمال غرب ایران، نمونه‌های ۹۵ عددی از سینورزیوبیویک از جنس S. meliloti و S. medicae در نواحی بغداد، کرمانشاه، اردبیل، شرق و کرمانستان انتخاب شدند. نتایج آنکه فاقد این جدابیها به ترتیب به مدت ۱۴ هفته در منطقه Trigonella foenum-graecum (Melilotus officinalis) جدابی تولید کننده گره در بونجه زرد و ۳۱ جدابی همزینت با یونجه S. meliloti در این جدابیها با استفاده از فرآیند PCR-RFLP و ۱۶S rRNA تشخیص داده شدند. پراکنش سینورزیوبیویک در مناطق مختلف روی جمعیت‌های یونجه مستحکم عوامل اکثر این فاکتورها است. برای تشخیص سیریک سینورزیوبیویک از ایده‌های کننده گره در بونجه است

Sinorhizobium medicae، Sinorhizobium meliloti، PCR-RFLP

واژه‌های کلیدی: یونجه، یونجه، کپنگی

مقدمه

یکی از ویژگی‌های مهم گیاهان خانواده لگوم مانند یونجه، توانایی آنها در هم‌بسته‌سازی باکتری‌های نیتروژن‌نیتست نیتروژن از ذخیره داشته باشد. هم‌بسته‌ی خاص باکتری

1. به ترتیب دانشوری دکتری و دانشگاه پوئژولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
2. دانشیار زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
3. دانشیار زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

mbahar@cc.iut.ac.ir

*منسوب مکاتبات، پست الکترونیکی:
گونه‌های بیولژیکی‌های هم‌مریست با یک‌دایان خانواده‌گرای خوکی می‌باشد. مجموعه‌های هم‌مریست Rhizobium و Mesorhizobium Bradyrhizobium Azorhizobium Sinorhizobium قرار می‌گیرند. روش‌های مولکولی زنبوری برای تشخیص دقیق


کulatory هم‌مریست با یک‌دایان خانواده‌گرای خوکی می‌باشد. مجموعه‌های H. meliloti و S. medicae S. meliloti است که در بین آنها و S. fredii و S. saheli و Melilotus Medicago که در جنس هم‌مریست S. medicae تولید گردیده است. در گروه می‌کند. ترتیب بهتری با به داشت (11). Trigonella


در مورد گروه S. meliloti قرار داشته باشد. گونه S. medicae اغلب در Medicago به همراه گونه S. meliloti در بین جنس هم‌مریست S. medicae


با این که همانند S. meliloti S. meliloti S. meliloti S. meliloti S. meliloti S. medicae


در این راستا می‌باشد. گونه S. medicae اغلب در Medicago به همراه گونه S. meliloti در بین جنس هم‌مریست S. medicae


در این راستا می‌باشد. گونه S. medicae اغلب در Medicago به همراه گونه S. meliloti در بین جنس هم‌مریست S. medicae


در این راستا می‌باشد. گونه S. medicae اغلب در Medicago به همراه گونه S. meliloti در بین جنس هم‌مریست S. medicae


در این راستا می‌باشد. گونه S. medicae اغلب در Medicago به همراه گونه S. meliloti در بین جنس هم‌مریست S. medicae


در این راستا می‌باشد. گونه S. medicae اغلب در Medicago به همراه گونه S. meliloti در بین جنس هم‌مریست S. medicae


در این راستا می‌باشد. گونه S. medicae اغلب در Medicago به همراه گونه S. meliloti در بین جنس هم‌مریست S. medicae


در این راستا می‌باشد. گونه S. medicae اغلب در Medicago به همراه گونه S. meliloti در بین جنس هم‌مریست S. medicae


در این راستا می‌باشد. گونه S. medicae اغلب در Medicago به همراه گونه S. meliloti در بین جنس هم‌مریست S. medicae


در این راستا می‌باشد. گونه S. medicae اغلب در ...
برای جداسازی جدایی‌ها رژیوپروپیوم همبستگی با (M. officinalis L. Pall. (Melilotus officinalis (L.) بونجه-زنده (Trigonella polycerata L.) ) از گروه‌های تشکیل شده روی رشته این گیاهان در شرایط طبیعی، موارد اصلی این استفاده شده. نماز در این شرایط وضعیت باکتری همانهای بزرگ این میکروبیومی در DNA بارای استخراج DNA برای استخراج DNA به سه روش مورد بررسی قرار گرفت. در هر یک از این دو روش، مقدار و سطح PCR به برنامه nodR و Zn و سطح PCR به برنامه nodbox4 در جدایی‌های رژیوپروپیوم مورد بررسی قرار گرفت. در هر یک از این دو روش nodbox1/nodbox3 و برای تکنیک Zn از جفت آنگارز مقیاس رشد nodR/nodR را در کل 1 Rm1021 (S. meliloti) استفاده گردید. (88) در جدایه‌های pSym nodbox4 در پلاسمید s. meliloti در کروموزوم 5 برای تشخیص سوسیاها استفاده می‌شود (19).

در ایران کامل بونجه به عنوان یک محصول مهم علوفه‌ای نسبت S. meliloti به منطقه همدان (1). اطلاعات بیشتری در رابطه با پراکنش رژیوپروپیوم همبستگی با بونجه در مناطق مختلف کشور وجود ندارد. لازم است وضعیت گسترش هرکدام از این گونه‌های رژیوپروپیوم مشخص شود. در این تحقیق در روش تکنیک مکان nodbox4 و Zn به وسیله PCR و همچنین هضم آنژیمی قطعه تکنیک اتفاق 16S rDNA آزمون بررسی شده. برای تعیین پراکنش طبیعی گونه‌های S. meliloti و S. medicae در Medicago ساگیانه گیاهان در ایران مورد استفاده قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه‌ها و استخراج DNA

به منظور جداسازی رژیوپروپیومی همبستگی با بونجه، ابتدا سه جمعیت بونجه چندساله شامل دو جمعیت داخلی (همدانی و تک شهرو) و یک جمعیت علوفه (کودود) به طور جداگانه در به نمونه خاک مشاتی از مناطق مختلف و سه تکنیک کشت گردید و با شرایط دماهای 35-20 در گلخانه‌های گیاهان ساگیانه بونجه در تک‌مزرعه داده. با چک کردن مقدار PCR و یک زمین بیا از هر یک از مناطق جذاب‌کننده کروم‌دان، سنندج کروم‌دان داده‌های مصری چنین صنعتی چهار گیاه از هر گیاهان و چهار گهر از گیاهان بیشتر از این درون کم سطح در کل 96 درصد به مدت دو دقیقه، هیپوکلریت سدیم 5/50 مایل تجاری ساخته شده (50 مایل تجاری ساخته شده) به مدت یک دقیقه و سه بار شستشو در آب مغذی استریل به کمک پنس صورت می‌گیرد. وقتی آب سسون تخلید یک طرف پنتر صورت نه گردید. یک لوب باکتریایی از مخلوط به دست آمده روز ملکه چندان.
جدول 1. نام توالی و دمای انتقال آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق

<table>
<thead>
<tr>
<th>نام آغازگر</th>
<th>دمای انتقال(°C)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>nodbox1</td>
<td>51/28</td>
</tr>
<tr>
<td>nodbox3</td>
<td>57/1</td>
</tr>
<tr>
<td>mucRf</td>
<td>59/8</td>
</tr>
<tr>
<td>mucRr</td>
<td>56/2</td>
</tr>
<tr>
<td>fDi</td>
<td>58</td>
</tr>
<tr>
<td>rDi</td>
<td>55</td>
</tr>
</tbody>
</table>

Macrogen تایید شد. تریش توالی این قطعات توسط شرکت کرو جوینی انجام گرفت. توالی قطعات هماسه‌سازی شده با زنها وجود در بنک اطلاعات زن (NCBI) مفاہمه گردید.

**RsaI**

الکتروریوز 16S rDNA و هضم با استفاده از آنزیم بریش fDi برای تکثیر قطعه 16S rDNA جدایی از جفت آغازگر و انتقال گردید (22). توالی و دمای دوب آغازگرهای nodbox1 و nodbox3 مکرورنگ نیز در جدول 1 آمده است. واکنش PCR برای نمونه‌ها در حجم 15 میکرولیتر شامل 1/5 میکرولیتر بافر Taq DNA polymerase 15 میلی مولار، یک واحد و دو dNTPs 3/3 میکرومولار از هزار آغازگر، 2/5 میلی مولار و DNA استخراج شده تهیه شد. پس از اضافه کردن میکرولیتر از DNA استخراج شده با PCR یک قطره روان رصد نمونه در ترانش توجه برداشت. برای نمونه‌ها در این تحقیق از اصلاح mastercycler gradient در دستگاه Fermentas مدل ماتریدر أنوو لیبل. انجام گرفت که در مایع 95°C در دقیقه مدت 30 ثانیه، 53°C در مدت 25 ثانیه و 72°C در مدت 30 ثانیه و نهایتاً یک قطره هفت دقیقه در مایع 72 به ترتیب برای ریزی شده TBE بود. محصولات PCR روز زل آگازوز 1/2 درصد با بایفر کلکتروفور دشتند و داده‌های PCR از رنگ آمیزی با ایدیدوم پروماید تهیه گردید. عکس پردازی شد.

**PCR**

*E. coli* در Fermentas کیت K121444R برای نمونه‌ها به وسیله nodbox4 و زن RsaI قطعات حاصل از تکثیر مکانیک از 20 و 50 میکرولیتر با PCR (Ins TA clone™ PCR,) #K121444R گرفته شد. ترانش PCR ناقل هماسه‌سازی شده و به متانیان *E. coli* میزبان hps757R/T توانال نمی‌شود. انتقال فاوت به منظور گرفتن اولیه هماسه‌ها از MC1061 روش غربالگری سریع (Rapid screening) استخراج گردید (20). پلاسمید هماسه‌های به دست آمده، به کمک الکتروریوز Real Biotech Corp.) RBC هماسه‌ها با تکثیر قطعه یک کلون شده در این پلاسما که به کمک جفت آغازگرهای مربوط به PCR و هضم PCR آنزیم بریش EcoRI و PstI آنزیم توسط آنزیم بریش (Fermentas Co.) استخراج گردید.
سینوریزیموم ملیوتی (S. meliloti) 

به منظور تأیید ارتباط این باند با S. meliloti، در این مطالعه، جفت بازی تکثیر یافته در جدایی 13 و 171/5 نداشت. این تکثیر یافته در GUS همراه با نمایه مرزی 171/5 و ترکیب TBE رونده 81 در حال حاضر در نژاد S. meliloti 637 و S. medicae 444 موجود باشد. نتایج بالا دارد که TBE یک کاندید رفکت را در TBE یافته و گردید.

نتایج و بحث

از کشت مخلوط گروه‌های ریشه جمع‌یافته‌های مختلف پونجه پشت یافته در خاک‌های جمع اعیان و مجموعه گوره‌گونه S. meliloti با گیاه‌های سیبروزیموم جداسازی گردید. از گروه‌های ریشه گیاهان پونجه برده، به ترتیب 14 و (T. polycerata) و S. medicae (M. officinalis) در واکنش همبستگی PCR جدایه استاندارد 21 به همراه 424 جفت باده پنجه. جدای نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیب 14 و 31 جدایه نموده، به ترتیb
شکل 1 نمونه الکترونی و محصول با جفت آغازگرهای PCR از جمعه‌های پونجه و سال همکاری‌های مختلف غرب و شمال غرب ایران در جهاده‌های جمع‌آوری شده

شکل 2 مقایسه توالی قطعه DNA nodbox3/nodbox1 در رژیم‌های مختلف B41-13 با جداییهای موجود در بانک ZN (NCBI)
Sinorhizobium meliloti

S. medicae

PCR RFLP-16S rDNA

S. meliloti

mucRf/mucRr

NCBI

B11-8
نوع سنگینه، در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کامل، می‌تواند در مسیر 2D کری‌کی نشانگر، مربوط به‌یک‌سانی در مولکول گونه‌های آزاد، سلول‌های پیش‌گیری‌گر و در خاک‌های مختلف، به‌طور کام
پراکنش گونه‌های سینورزیبویوسی

نقطه‌هایی از زیر نشان داده شده‌اند:

1. کریمی، ا.ا.ک، خرائی، ا. ا. ضرورتی و غ. حق. نیا. 1388. مطالعه نوع زنگ‌پوش باکتری‌های سینورزیبویوسی با استفاده از PCR/ RFLP 16S-23S rDNA. TKNکی. 41: 239-242.


